

Кудрявцева Е.В., проф. Ковалев В.В., к.м.н. Третьякова Т.Б.

Роль полиформизмов генов второй фазы детоксикации при бесплодии неясного генеза

УГМУ, кафедра акушерства и гинекологии ФПК и ПП, г. Екатеринбург

Kudryavtseva E.V., prof. Kovalev V.V., Ph.D. Tretiyakova T.B.

Role of genes polymorphisms of the second phase of detoxification for unexplained infertility

Резюме

Целью работы явилось установление возможной ассоциации полиморфных вариантов генов второй фазы детоксикации (EPHX1, GSTP1, TMTP) с бесплодием неясного генеза. Обследовано 150 женщин с диагнозом «бесплодие неясного генеза» составили основную группу и 50 женщин, не страдавших бесплодием, контрольную группу. Показано достоверные различия по полиморфным вариантам исследуемых генов между основной и контрольной группой. Полученные результаты позволяют предполагать ассоциацию генов детоксикации с развитием патологии и свидетельствуют о важной роли системы детоксикации в генезе нарушений репродуктивной функции.

Ключевые слова: идиопатическое бесплодие, гены детоксикации, генетический полиморфизм

Summary

The aim of the work was the possible association of polymorphic variants of detoxification genes of the second phase (EPHX1, GSTP1, TMTP) with unexplained infertility. The study involved 150 women. 100 women with a diagnosis of "unexplained infertility" the main group and 50 women who did not suffer from infertility, a control group. Shown significant differences in the studied polymorphic variants of genes between the study and control group. These results suggest an association with the development of detoxification genes pathology and suggest an important role of detoxification system in the genesis of reproductive disorders.

Keywords: idiopathic infertility, detoxification genes, genetic polymorphism

Введение

Частота бесплодных браков в разных регионах России составляет от 8 до 20%. При этом известно, что в структуре данной патологии 6-10% приходится на долю идиопатического бесплодия [1,2], поэтому актуален поиск новых возможных причин бесплодия, в том числе генетически детерминированных.

Известно, что «гены детоксикации» являются кандидатными генами для множества хронических заболеваний, в том числе и связанных с репродуктивной системой. Известно, что репродуктивная система человека отличается особой чувствительностью к действию токсических агентов, поэтому нарушение работы системы детоксикации опосредованно может привести к снижению репродуктивного потенциала. Система детоксикации включает в себя ряд ферментов, кодируемых семью генов, которые называются «гены детоксикации». В зависимости от особенностей генома различные индивидуумы могут обнаруживать повышенную чувствительность, либо, напротив, сохраняя устойчивость, к различным экзо- и эндогенным токсикантам [3, 4].

Многие заболевания провоцируются наличием в организме функционально неполноценных аллелей генов детоксикации, которые приводят к синтезу излишне активных или, наоборот, функционально ослабленных форм таких ферментов. Роль генов детоксикации в провокации некоторых заболеваний, в том числе и репродуктивной системы, подробно изучается уже в течение многих лет. Проведено достаточно большое количество, посвященных связи полиморфных вариантов генов детоксикации с эндометриозом, онкопатологией репродуктивной системы, акушерскими осложнениями (невынашивание беременности, преэклампсия, фетоплацентарная недостаточность) [5,6]. Мы предположили, что некоторые полиморфизмы в этих генах могут играть роль и при бесплодии.

Цель исследования: установить возможную ассоциацию полиморфных вариантов генов второй фазы детоксикации (EPHX1, GSTP1, TMTP) с бесплодием неясного генеза.

Материалы и методы.

Обследовано 150 женщин в возрасте от 23 до 38 лет, 100 женщин с диагнозом «бесплодие неясного генеза»

Таблица 1. Исследуемые гены и полиморфизмы

Ген	Локализация на хромосоме	Белковый продукт	Полиморфизм	SNT_ID
EPHX1	1q42.1	Эпоксидгидролаза микросом	Y113N T>C	rs1051740
EPHX1	1q42.1	Эпоксидгидролаза микросом	H139R A>G	rs2234922
GSTP1	11q13	S-трансфераза глутатиона типа P1	I105V A>G	rs1695
GSTP1	11q13	S-трансфераза глутатиона типа P1	A114V C>T	rs1138272
TPMT	6p22.3	тиопурин S-метилтрансфераза	A80P G>C	rs1800462
TPMT	6p22.3	тиопурин S-метилтрансфераза	A154T G>A	rs1800460
TPMT	6p22.3	тиопурин S-метилтрансфераза	Y240C A>G	rs1142345

составили основную группу и 50 женщин, не страдавших бесплодием и имеющих хотя бы одного живого ребенка, контрольную группу. Средний возраст пациенток основной группы составил $30,8 \pm 0,42$ года, контрольной группы – $31,00 \pm 0,72$ ($p > 0,05$). Все женщины имели славянское происхождение и проживали на территории Свердловской области. При этом возраст супругов обследуемых женщин в основной группе составил $32,7 \pm 0,64$ года, и не имел существенных отличий от возраста супругов пациенток контрольной группы – $34,4 \pm 0,87$ года ($p > 0,05$). Длительность бесплодия у пациенток основной группы составила от 1 до 10 лет (в среднем 4,5 года). 60 пациенток (60%) страдали первичным бесплодием неясного генеза, а 40 (40%) вторичным бесплодием. Все женщины основной группы были предварительно обследованы в связи с бесплодием согласно приказу Минздрава России № 572н от 1 ноября 2012 г. «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология (за исключением использования вспомогательных репродуктивных технологий)».

Всем женщинам проводилось молекулярно-генетическое исследование методом пиросеквенирования с применением системы генетического анализа серии RuгоMark Q24. ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови, используя комплект реагентов «ДНК-сорб-В» производства ФГУН «Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора».

Исследуемые гены и полиморфизмы представлены в таблице 1.

Для оценки достоверности различий между исследуемыми группами использовался критерий хи-квадрат. Достоверными принимались различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Мы сравнили частоту встречаемости полиморфных генотипов в основной и контрольной группах. Результаты представлены в таблице 2.

В основной группе достоверно чаще встречались мутантные гомозиготы по полиморфизму EPHX1 A415G – частота встречаемости генотипа GG в основной и контрольной группах соответственно 17% и 4% ($p = 0,02$,

$OR = 4,91$). По частоте встречаемости полиморфных генотипов гена GSTP1 достоверных различий между указанными группами не получено. В гене TPMT достоверные различия получены по двум полиморфизмам – G238C и G460A. Полиморфные генотипы TPMT G238C (GC и CC) в основной группе встречались реже, чем в контрольной – частота встречаемости соответственно 22% и 38% ($p = 0,04$, $OR = 2,17$). При исследовании полиморфизма TPMT G460A выявлена достоверно более высокая частота мутантных гомозигот в группе пациенток с бесплодием – 12% против 2% ($p = 0,04$, $OR = 6,68$).

Кроме того мы предположили, что в развитии первичного и вторичного бесплодия могут играть роль разные полиморфизмы, поэтому основную группу мы разделили на 2 подгруппы:

- 1ая подгруппа: пациентки с первичным бесплодием неясного генеза (N=60);
- 2ая подгруппа: пациентки, страдающие вторичным бесплодием (N=40).

Результаты представлены в таблице 3.

При первичном бесплодии достоверные различия наблюдались лишь по полиморфизму TPMT G238C. При этом нормальные гомозиготы («дикий» генотип) в этой подгруппе встречались достоверно чаще, чем в контрольной группе – частота встречаемости генотипа GG составила соответственно 80% и 62% ($p = 0,03$, $OR = 2,45$).

При вторичном бесплодии достоверно чаще встречались мутантные гомозиготы по полиморфизмам гена EPHX1. Генотип CC (T337C) в подгруппе пациенток с вторичным бесплодием встречался в 17,5% случаев, тогда как при первичном бесплодии лишь в 6,6% случаев, а в контрольной группе не выявлялся вообще. Частота генотипа GG (A415G) в подгруппе со вторичным бесплодием составила 27,5%, а в контрольной группе лишь 4%. Также в подгруппе с вторичным бесплодием достоверно чаще встречался гомозиготный генотип AA гена TPMT G460A.

Таким образом можно сделать вывод, что система полиморфизмов генов системы детоксикации играют роль в развитии идиопатического бесплодия. Выявлены достоверные различия между исследуемыми группами по ча-

Таблица 2. Частота полиморфизмов генов детоксикации у пациенток с бесплодием и в контрольной группе (Общая модель)

Ген, полиморфизм	Генотип	Основная группа n(%)	Контрольная группа n (%)	p	ОШ	ДИ
EPHX1 T337C	TT	51 (51)	27 (54)	0,72	0,88	0,44-1,75
	TC	38 (38)	23 (46)	0,34	0,72	0,36-1,43
	CC	11 (11)	0	-	-	-
	TC+CC	49 (49)	23 (46)	0,72	1,12	0,56-2,22
EPHX1 A415G	AA	28 (28)	22 (44)	0,05	0,45	0,92-0,22
	AG	55 (55)	26 (52)	0,72	1,12	0,5-2,22
	GG	17 (17)	2 (4)	0,02	4,91	1,1-22,2
	AG+GG	72 (72)	28 (56)	0,05	2,02	0,99-4,1
GSTP1 A313G	AA	50 (50)	27 (54)	0,64	0,85	1,68-0,43
	AG	42 (42)	22 (44)	0,81	0,92	1,82-0,46
	GG	8 (8)	1 (2)	0,14	4,26	0,51-35,06
	AG+GG	50 (50)	23 (46)	0,64	1,17	0,59-2,31
GSTP1 C341T	CC	64 (64)	37 (74)	9,21	0,62	0,29-1,33
	CT	21 (21)	9 (18)	0,88	1,21	0,5-2,88
	TT	15 (15)	4 (8)	0,22	2,02	0,63-6,47
	CT+TT	36 (36)	13 (26)	9,21	1,65	0,75-3,39
TPMT G238C	GG	78 (78)	31 (62)	0,04	2,17	1,04-4,56
	GC	20 (20)	15 (30)	0,17	0,58	0,26-1,2
	CC	2 (2)	4 (8)	0,08	0,129	0,637-0,026
	GC+CC	22 (22)	19 (38)	0,04	0,46	0,21-0,96
TPMT G460A	GG	72 (72)	41 (82)	0,18	0,56	1,31-0,24
	GA	16 (16)	8 (16)	1	1	0,39-2,52
	AA	12 (12)	1 (2)	0,04	6,68	1,84-52,02
	GA+AA	28 (28)	9 (18)	0,18	1,77	0,76-4,11
TPMT A719G	AA	86 (86)	44 (88)	0,74	0,83	0,3-2,33
	AG	14 (14)	6 (12)	0,74	1,19	0,42-3,32
	GG	-	-	-	-	-
	AG+GG	14 (14)	6 (12)	0,74	1,19	0,42-3,32

Таблица 3. Частота полиморфизмов генов детоксикации при первичном и вторичном бесплодии неясного генеза

Ген, полиморфизм	Генотип	Бесплодие 1 (n=60), n(%)	Бесплодие 2 (n=40), n (%)	Контрольная группа n (%)	P1	ОШ1	ДИ1	P2	ОШ2	ДИ2
EPHX1 T337C	TT	34 (56,66)	16 (40)	27 (54)	0,79	1,11	0,52-2,37	0,18	0,56	0,24-1,31
	TC	22 (36,66)	17 (42,5)	23 (46)	0,55	0,68	0,31-1,46	0,74	0,85	0,37-2,05
	CC	4 (6,66)	7 (17,5)	0	0,06	-	-	0,002	-	-
	TC+CC	26 (43,3)	24 (60)	23 (46)	0,79	0,89	0,42-1,9	0,18	1,76	0,75-4,08
EPHX1 A415G	AA	17 (28,33)	11 (27,5)	22 (44)	0,08	0,9	0,39-2,1	0,10	0,48	0,19-1,17
	AG	37 (61,66)	18 (45)	26 (52)	0,30	1,55	0,72-3,3	0,51	0,75	0,32-1,73
	GG	6 (10)	11 (27,5)	2 (4)	0,22	6,54	1,22-35	0,006	9,1	1,88-44,01
	AG+GG	43 (71,66)	29 (72,5)	28 (56)	0,08	1,53	0,71-3,27	0,10	2,08	0,84-5,84
GSTP1 A313G	AA	28 (46,66)	22 (55)	27 (54)	0,44	0,74	0,35-1,58	0,92	1,04	0,45-2,39
	AG	25 (41,66)	17 (42,5)	22 (44)	0,80	1,38	0,65-3,01	0,88	0,94	0,40-2,17
	GG	7 (11,66)	1 (2,5)	1 (2)	0,05	6,47	0,74-54,53	0,88	1,25	0,07-20,73

	AG+GG	32 (53,33)	18 (45)	23 (46)	0,44	1,34	0,63- 2,84	0,92	0,96	0,41- 2,21
GSTP1 C341T	CC	38 (63,33)	26 (65)	37 (74)	0,23	0,6	0,23- 1,38	0,74	0,65	0,26- 1,61
	CT	12 (20)	9 (22,5)	9 (18)	0,79	1,13	0,43- 2,97	0,59	1,32	0,46- 3,72
	TT	10 (16,66)	5 (12,5)	4 (8)	0,17	2,3	0,67- 7,84	0,47	1,64	0,41- 6,57
	CT+TT	22 (36,66)	14 (35)	13 (26)	0,23	1,64	0,72- 3,74	0,74	1,52	0,61- 3,79
TPMT G238C	GG	48 (80)	29 (72,5)	31 (62)	0,03	2,45	1,04- 5,74	0,29	1,61	0,65- 3,76
	GC	12 (20)	9 (22,5)	15 (30)	0,22	0,58	0,24- 1,39	0,42	0,67	0,26- 1,76
	CC	0	2 (5)	4 (8)	0,11	-	-	0,57	0,6	0,1- 3,48
	GC+CC	12 (20)	11 (27,5)	19 (38)	0,03	0,4	0,17- 0,95	0,29	0,62	0,25- 1,52
TPMT G460A	GG	44 (73,33)	28 (70)	41 (82)	0,28	0,6	0,24- 1,51	0,18	0,51	0,19- 1,37
	GA	10 (16,66)	6 (15)	8 (16)	0,92	1,05	0,38- 2,9	0,88	0,92	0,29- 2,92
	AA	6 (10)	6 (15)	1 (2)	0,08	5,44	0,63- 46,83	0,02	8,12	1,16- 81,6
	GA+AA	16 (26,66)	12 (30)	9 (18)	0,28	1,65	0,65- 4,16	0,18	1,95	0,72- 5,24
TPMT A719G	AA	49 (81,66)	37 (92,5)	44 (88)	0,36	0,6	0,2- 1,77	0,47	1,68	0,39- 7,19
	AG	11 (18,33)	3 (7,5)	6 (12)	0,36	1,64	0,56- 4,82	0,47	0,59	0,13- 2,54
	GG	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	AG+GG	11 (18,33)	3 (7,5)	6 (12)	0,36			0,47	1,55	0,46- 5,07

стоте встречаемости полиморфных аллелей генов EPNX и TPMT. При первичном бесплодии наибольшее значение имеет полиморфизм TPMT G238C. Причем «дикий» генотип GG является фактором риска по развитию бесплодия. В отношении вторичного бесплодия прогностически неблагоприятными являются полиморфные генотипы EPNX – CC в 337 положении и GG в 415, а также мутантная гомозигота AA по полиморфизму TPMT G460A.

Заключение

Полученные результаты позволяют предполагать ассоциацию генов детоксикации с развитием патологии и

свидетельствуют о важной роли системы детоксикации в генезе нарушений репродуктивной функции. ■

Кудрявцева Е.В., проф. Ковалев В.В., к.м.н. Третьякова Т.Б., УГМУ, кафедра акушерства и гинекологии ФПК и ПП, г. Екатеринбург; Автор, ответственный за переписку - Кудрявцева Елена Владимировна, 620146, Екатеринбург, ул. Постовского 17-3, elenavladpopova@yandex.ru

Литература:

- Gleicher N., Barad D. Unexplained Infertility: does it really exist? Hum. Reprod. 2006; 21; 8; 1951.
- Гончарова Н.Н., Мартышкина Е.Ю., Казначеева Т.В., Арелаян К.Н., Адамьян Л.В., Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Черных В.В. Медико-генетические аспекты бесплодия. Акушерство, гинекология и репродукция 2012; 2; 35-40.
- Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. - СПб.: ООО «Издательство Н-Л», 2009. – 528 с.
- Nebert D.W., Dalton T.P. The role of cytochrome P450 enzymes in endogenous signalling pathways and environmental carcinogenesis. Nat Rev Cancer. – 2006. – №6. – p. 947–960.
- Иващенко Т.Э., Швед Н.Ю., Беспалова О.Н. и др. Генетические основы предрасположенности к акушерской и гинекологической патологии // Молекулярная медицина. – 2007. - №4 – с. 19-26.
- Хамадиянов У.Р., Викторова Т.В., Исхакова Г.М. Роль генов биотрансформации ксенобиотиков в патогенезе нарушений репродуктивной функции у женщин // Вопр. гин., акуш. и перинат. – 2005. - Т.5, №4. - С.39-41.